

DERWENT-ACC-NO: 1994-329917

DERWENT-WEEK: 200382

COPYRIGHT 2010 DERWENT INFORMATION LTD

TITLE: Learning ability improver contg.
a 1,2-di:acyl-sn-glycerol deriv.

INVENTOR: FUKUDA N; HASHIMOTO M ; HIBINO H ;
IRIKITA M ; ISAKI Y ; MATSUYOSHI S

PATENT-ASSIGNEE: NIPPON OILS & FATS CO LTD[NIOF]

PRIORITY-DATA: 1993JP-048176 (March 9, 1993)

PATENT-FAMILY:

PUB-NO	PUB-DATE	LANGUAGE
JP 06256179 A	September 13, 1994	JA
JP 3467794 B2	November 17, 2003	JA

APPLICATION-DATA:

PUB-NO	APPL-DESCRIPTOR	APPL-NO	APPL-DATE
JP 06256179A	N/A	1993JP-048176	March 9, 1993
JP 3467794B2	Previous Publ	1993JP-048176	March 9, 1993

INT-CL-CURRENT:

TYPE	IPC DATE
CIPP	A23L1/30 20060101
CIPS	A61K31/23 20060101
CIPS	A61K31/661 20060101
CIPS	A61K31/683 20060101
CIPS	A61K31/685 20060101
CIPS	A61P25/28 20060101

ABSTRACTED-PUB-NO: JP 06256179 A**BASIC-ABSTRACT:**

A learning ability improver comprises a 1,2-diacyl-sn-glycerol deriv. of formula $R1-O-CH_2-CH(OR_2)-CH_2-O-R_3$ (I) are an effective component. R_1 = 14-24C satd. or monoene fatty acid residue; R_2 = a residue of arachidonic acid, eicosapentaenoic acid or docosahexaenoic acid; R_3 = H, phosphorylcholine, phosphoryl-ethanolamine, phosphorylserine or phosphorylinositol residue or phosphoric acid residue.

USE/ADVANTAGE - By administering a small amt. of the improver for a short period, an excellent learning ability improving effect can be obtd. and the improver has a low toxicity.

In an example, a soln. of 28 micro mol/ml of 1-oleoyl-2-docosahexaenoyl -sn-glycero-3-phosphorylcholine (A) and 1-oleoyl-2-docosahexaenoyl -sn-glycerol (B) in ethanol was prepd., respectively, and placed in a small brown bottle. The bottle was filled with N₂ and stored

at 4 deg.C. Two micro mol/rat of the soln. was intraperitoneally injected to F344/NS1c male rat (11-12 week ages). The rats were kept under conditions of 24+/- 1 deg.C, 50 +/- 10% humidity, a cycle of 12 h dark and 12 h light. Feed and water made freely take in. In rats trained in a previously determined electrical shock test, avoidance % to the shock was examined. After injecting two times, (A) and (B) showed avoidance % of 64.2 +/- 2.9 and 65.0 +/- 6.3 compared with a control of 55.6 +/- 2.9.

CHOSEN-DRAWING: Dwg.0/0

TITLE-TERMS: LEARNING ABILITY IMPROVE CONTAIN
DI ACYL GLYCEROL DERIVATIVE

DERWENT-CLASS: B05 D13 E11 E17

CPI-CODES: B05-B01N; B10-C04E; D03-H01T2;
E05-G; E05-G09D; E10-E04K;

CHEMICAL-CODES: Chemical Indexing M2 *01*
Fragmentation Code A350 A960 C720
L817 L821 L833 M781 P448 Markush
Compounds 944116301

Chemical Indexing M3 *01*
Fragmentation Code A350 A960 C720
L817 L821 L833 M781 P448 Markush
Compounds 944116301

SECONDARY-ACC-NO:

CPI Secondary Accession Numbers: 1994-149902

(19)日本国特許庁(J P)

(12) 公開特許公報(A)

(11)特許出願公開番号

特開平6-256179

(43)公開日 平成6年(1994)9月13日

(51)Int.Cl. ⁵	識別記号	庁内整理番号	F I	技術表示箇所
A 6 1 K 31/23	A A M	9283-4C		
A 2 3 L 1/30				
A 6 1 K 31/685		8314-4C		

審査請求 未請求 請求項の数 1 O L (全 6 頁)

(21)出願番号 特願平5-48176

(22)出願日 平成5年(1993)3月9日

(71)出願人 000004341
日本油脂株式会社
東京都千代田区有楽町1丁目10番1号
(72)発明者 日比野 英彦
東京都練馬区旭丘2-22-1
(72)発明者 福田 信雄
茨城県つくば市梅園2-24-5
(72)発明者 松吉 繁
茨城県つくば市春日2-20-3
(72)発明者 入来 正躬
山梨県甲府市西田町2-15
(74)代理人 弁理士 柳原 成

最終頁に続く

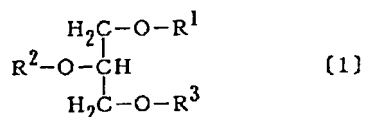
(54)【発明の名称】 学習能向上剤

(57)【要約】

【目的】 短期間でしかも少量の投与量で優れた学習能向上効果が得られ、かつ毒性が低くて安全な学習能向上剤を得る。

【構成】 一般式

【化1】

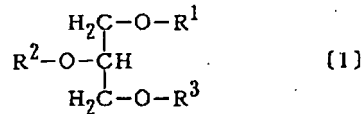


(式中、R¹は炭素数14~24の飽和またはモノエン脂肪酸残基、R²はアラキドン酸、エイコサペンタエン酸またはドコサヘキサエン酸残基、R³は水素、ホスホリルコリン基、ホスホリルエタノールアミン基、ホスホリルセリン基、ホスホリルイノシトール基またはリン酸基を表わす。)で示される1,2-ジアシル-sn-グリセロール誘導体を有効成分として含有する学習能向上剤。

【特許請求の範囲】

【請求項1】 一般式

【化1】



(式中、R¹は炭素数14～24の飽和またはモノエン脂肪酸残基、R²はアラキドン酸、エイコサペンタエン酸またはドコサヘキサエン酸残基、R³は水素、ホスホリルコリン基、ホスホリルエタノールアミン基、ホスホリルセリン基、ホスホリルイノシトール基またはリン酸基を表わす。)で示される1, 2-ジアシル-s n-グリセロール誘導体を有効成分として含有することを特徴とする学習能向上剤。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【産業上の利用分野】本発明は学習能を向上させることが可能な学習能向上剤に関する。

【0002】

【従来の技術】近年、学習能力や記憶力等の脳の機能を高める物質の探索が多方面にわたって検討されている。その結果、脳の機能を高める物質は脳の血行を良くし脳細胞への酸素や栄養の供給を高める脳循環改善剤、または脳細胞の働きを活性化させる脳代謝改善剤に分類され、これらの物質は医薬品を目的として化学合成されている。しかし脳の機能を高める物質の機能発現には一般的に長期間の摂取が必要であるにも拘らず、化学合成された多くのこれらの物質は副作用が極めて強く、長期の摂取、投与は困難である。

【0003】一方、学習能を向上させる天然の食品成分としてα-リノレン酸(生化学、59、1235、1987)や、ドコサヘキサエン酸(以下、DHAと略する場合がある)またはその塩、アミド、エステル、リン脂質、トリグリセリド等の誘導体(特開平1-279827号公報)が公知であり、α-リノレン酸はラットの明度弁別学習実験で、またDHAまたはその誘導体はラットのY路迷路明暗弁別餌取実験で正反応率を向上させることが知られている。

【0004】しかし、特開平1-279827号公報に記載されているドコサヘキサエン酸や、そのエステル、トリグリセリド、リン脂質等の誘導体が学習効果を発揮するには長期間にわたって多量に摂取する必要がある。またリン脂質についてはグリセロリン脂質なのか、またはスフィンゴリン脂質なのか記載されておらず、誘導体の構造も明らかにされていない。

【0005】DHAの配座と充填特性のコンピューターによるモデル化の研究(ジャーナル・オブ・リビッド・リサーチ、27、658、1986)において、グリセロールのs n-1位にアシル連鎖を有し、s n-2位に

DHAを組み込むと、s n-1位のアシル連鎖とs n-2位の山形鉄状の連鎖構造をとるDHAのV字溝にs n-1位のアシル連鎖が充填され、DHAの2つの平面とアシル連鎖との分子間相互作用により非常に特異的な立体構造を示すことが示唆されており、このような化合物の立体構造は重要である。

【0006】一方、特開昭64-2589号公報、特開昭64-51091号公報、特開平1-160989号公報には、s n-1位に飽和またはモノエン脂肪酸残基、s n-2位に高度不飽和脂肪酸残基がエステル結合した1, 2-ジアシル-s n-グリセロール誘導体が記載されている。しかし、これらはグリセロール誘導体の製造方法に関するものであり、1, 2-ジアシル-s n-グリセロール誘導体の具体的な生理活性については何ら開示されていない。

【0007】また、特開平2-45424号公報には、s n-1位にオレオイル基、s n-2位にドコサヘキサエノイル基またはエイコサペンタエノイル基がエステル結合した1, 2-ジアシル-s n-グリセロール誘導体を有効成分とする抗アレルギー剤が記載されている。しかしこの公報においても、上記グリセロール誘導体に学習能向上作用があることは明らかにされていない。

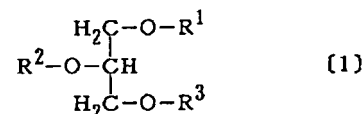
【0008】

【発明が解決しようとする課題】本発明の目的は、短期間でしかも少量の投与量で優れた学習能向上効果が得られ、かつ毒性が低くて安全な学習能向上剤を提供することである。

【0009】

【課題を解決するための手段】本発明は、一般式

【化2】



(式中、R¹は炭素数14～24の飽和またはモノエン脂肪酸残基、R²はアラキドン酸、エイコサペンタエン酸またはドコサヘキサエン酸残基、R³は水素、ホスホリルコリン基、ホスホリルエタノールアミン基、ホスホリルセリン基、ホスホリルイノシトール基またはリン酸基を表わす。)で示される1, 2-ジアシル-s n-グリセロール誘導体を有効成分として含有することを特徴とする学習能向上剤である。

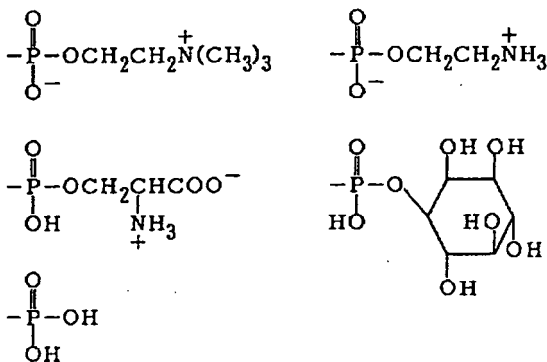
【0010】一般式(1)のR¹としては、ミリスチン酸、パルミチン酸、ステアリン酸、アラキン酸、ベヘン酸、リグノセリン酸等の炭素数14～24の飽和脂肪酸残基; オレイン酸(cis-9-オクタデセン酸)、パルミトレイン酸(cis-9-ヘキサデセン酸)、ミリストレイン酸(cis-9-テトラデセン酸)、バクセン酸(trans-11-オクタデセン酸)、cis-バクセン酸、エライジン酸(trans-9-オクタデ

セン酸)、ペトロセリン酸(cis-6-オクタデセン酸)、ペトロセライジン酸(trans-6-オクタデセン酸)、ガドレイン酸(cis-9-エイコセン酸)、cis-11-エイコセン酸、ゴンドイン酸(11-エイコセン酸)、セトレイン酸(11-ドコセン酸)、エルカ酸(cis-13-ドコセン酸)、ブラシジン酸(trans-13-ドコセン酸)、ネルボン酸(cis-15-テトラコン酸)等の炭素数14~24のモノエン脂肪酸残基などがあげられる。R¹としてはオレイン酸残基(オレオイル基)が好ましい。

【0011】R²はアラキドン酸、エイコサペンタエン酸またはドコサヘキサエン酸のアシル残基である。これらの中ではドコサヘキサエン酸のアシル残基が好ましい。

【0012】R³は水素、あるいは

【化3】



で示されるホスホリルコリン基、ホスホリルエタノールアミン基、ホスホリルセリン基、ホスホリルイノシトール基またはリン酸基である。これらの中では水素、ホスホリルコリン基が好ましい。

【0013】本発明で用いる1, 2-ジアシル-sn-グリセロール誘導体は、そのsn-1位に前記R¹のアシル基がエステル結合し、sn-2位に前記R²のアシル基が結合した立体特異性を有するものである。一般式〔1〕で示される1, 2-ジアシル-sn-グリセロール誘導体の具体的なものとして、次に示すものが例示される。

【0014】1-オレオイル-2-ドコサヘキサエノイル-sn-グリセロ-3-ホスホリルコリン(以下、ODPCと略す場合がある)

1-オレオイル-2-ドコサヘキサエノイル-sn-グリセロール(以下、ODDGと略す場合がある)

1-オレオイル-2-エイコサペンタエノイル-sn-グリセロ-3-ホスホリルエタノールアミン

1-パルミトレイル-2-ドコサヘキサエノイル-sn-グリセロ-3-ホスホリルセリン

1-ステアロイル-2-ドコサヘキサエノイル-sn-グリセロ-3-リン酸

1-ミリストイル-2-アラキドノイル-sn-グリセ

ロ-3-ホスホリルイノシトール

【0015】これらの中ではODPC、ODDGが好ましい。なお、ODPCは生体内の生体膜を構成する主要構成リン脂質であるホスファチジルコリン中に存在し、また魚卵や卵黄のリン脂質の主成分であり、グリセロールのsn-1位にオレオイル基、sn-2位にドコサヘキサエノイル基、sn-3位にホスホリルコリン基がエステル結合した淡黄色の脂溶性の油状物質である。ODDGも生体を構成する脂質であるジグリセリド中に存在し、ODPCのsn-3位が遊離水酸基となった淡黄色の脂溶性の油状物質である。

【0016】一般式〔1〕で示されるグリセロール誘導体は、短時間でしかも少量の投与で優れた学習能を示す。例えば、ドコサヘキサエン酸の学習能に関する従来の報告では、ラット1日当たり約0.7gのドコサヘキサエン酸を約10週間摂取させているのに対し、本発明で使用するグリセロール誘導体は、11~12週令の雄F344種ラット(この時点のラットの体重250~300g)の腹腔へ1回1.3~1.7mgを投与することにより、学習能の向上効果が認められる。

【0017】前記グリセロール誘導体は自然界の食物の組成成分の脂質やグリセロリン脂質の組成成分として存在している天然由来のものであり、経口投与または非経口投与による毒性が低く、生理学的に安全である。例えばODPC、ODDGの場合、生体内において生合成されるODPCやODDGと自然食物の脂質成分として存在するこれらの立体構造は同一であり、生体内に摂取されると通常の脂質と同様に代謝され何等の副作用もない。ODPCは毒性の面からも安全であり、マウスに対する経口投与のLD₅₀は13,000mg/kg以上であり、経静脈投与のLD₅₀は650mg/kg以上である。

【0018】本発明で使用するグリセロール誘導体は、例えば魚卵や卵黄のリン脂質のカラム分離による方法、1-オレオイル-sn-3-グリセロホスホコリンをドコサヘキサエン酸無水物でエステル化する化学合成法、魚卵や卵黄のリン脂質のカラム分離の後、得られたホスファチジルコリンやホスファチジルエタノールアミンをホスホリパーゼCで処理する方法、化学合成したホスファチジルコリンやホスファチジルエタノールアミンをホスホリパーゼCで処理する方法など、公知の方法により得ることができる。これらの方法の詳細は、特開昭64-2589号公報、特開昭64-51091号公報、特開平1-160989号公報などに記載されている。

【0019】なお、本発明で使用するグリセロール誘導体としては、純粋品の他に、上記方法により得られるグリセロール誘導体を高濃度に含有する画分や、グリセロール誘導体を含有する天然原料も使用することができる。

【0020】本発明の学習能向上剤は一般式〔1〕で示

されるグリセロール誘導体を有効成分として含有するものであり、学習能向上機能性食品や学習能向上医薬として利用できる。グリセロール誘導体はそのまま学習能向上剤とすることもできるが、有効成分を摂取しやすくするため、または食品素材などに均一に分散させるため、水溶液または粉体などの形態として学習能向上剤とすることもできる。

【0021】水溶液とするには、ホモミキサー、ジュースミキサー、超音波乳化機などによって水分散液とすることができる。このような分散方法によって10重量%分散液を得ることもできる。また粉末にするには、上記水溶液に澱粉、デキストリン、乳糖等の炭水化物；カゼイン、アルブミン等のタンパク質などを25～70重量%添加し、噴霧乾燥する方法などにより行うことができる。

【0022】本発明の学習能向上剤は、有効成分であるグリセロール誘導体として50mg～10g/体重60kg/日を経口投与することができる。

【0023】本発明の学習能向上剤は、通常の脂質と同様に取り扱うことができる。このため、脂肪輸液タイプの食品や各種の食品などに添加することができ、これにより被添加物に学習能向上効果を付与することができる。またこの有効成分によって学習能が向上し、記憶力も改善されることから老人性痴呆症の治療のための医薬品としても利用できる。

【0024】例えば、水溶液状の学習能向上剤は、濃縮ジュース、スープ、酒類、果汁等の飲料やソース等の各種食品に添加して学習能向上機能性食品として用いられる。また水溶液状の学習能向上剤に酢酸、乳酸、コハク酸、クエン酸、リンゴ酸等の食用有機酸；練乳、エバミルク、乳糖、発酵乳等の乳製品などを添加して各種食品の加工に用いたり、飲料として用いられる。粉末状の学習能向上剤は流動性が良く水分散性であるので、上記の水溶液として用いる他に、製菓製パン用素材としてビザ、パン、クッキー、パイ等に加工することができ、またスキムミルク等と混合してインスタント食品に加工することもできる。また学習能向上剤に、さらにアミノ酸、ビタミン類、ミネラル類を補給して総合栄養強化食品とすることもできる。

【0025】

【作用】本発明の学習能向上剤は、摂取により学習能が向上する。後述の比較例から明らかなように、オレイン酸分子、ドコサヘキサエン酸分子、グリセロホスホコリン分子、またはグリセロールの3個の水酸基に全てDHAを結合させたトリDHAには、学習能向上効果が認められない。また神経伝達物質のアセチルコリンの前駆物質のコリンを含む塩化コリンでも学習能向上効果が認められないことから、グリセロホスホコリンのコリン分子が学習能向上に直接作用していないことも明らかである。従って、一般式〔1〕で示されるグリセロール誘導

体の学習能向上効果は、ドコサヘキサエン酸等の高度不飽和酸分子に由来するものではなく、飽和またはモノエン脂肪酸残基と、高度不飽和酸残基とが、グリセロールと立体特異な結合により生じた分子構造に基づいていると推定される。

【0026】本発明の1, 2-ジアシル-s n-グリセロールはそのままの分子構造で、また1, 2-ジアシル-s n-グリセロール誘導体は生体内で1, 2-ジアシル-s n-グリセロールに代謝されるから、中枢の神経細胞のプロテインキナーゼCを活性化することにより、細胞内セカンドメッセンジャー系を賦活していることが推定される。さらに、学習を司る神経機構であると考えられている海馬の神経細胞に対して、長期増強作用を引き起こすことにより学習能を向上させていると考えられる。実施例のスコアの増大には、ここで用いた化合物の立体構造が重要であることが示されている。

【0027】

【発明の効果】以上の通り、本発明によれば、グリセロールのs n-1位に飽和またはモノ脂肪酸残基、s n-2位に特定の高度不飽和脂肪酸残基がエステル結合した1, 2-ジアシル-s n-グリセロール誘導体を有効成分として用いるようにしたので、短期間でしかも少量の投与量で優れた学習能向上効果が得られ、かつ毒性が低くて安全な学習能向上剤が得られる。

【0028】

【実施例】次に実施例により本発明をさらに詳細に説明する。

実施例

ODPCとODDGをそれぞれエタノールに28μmol/mlとなるように溶解した。溶液は小型の褐色瓶に入れ、窒素で充填した後4℃で保存した。ラット腹腔内投与は、それらの内の1種類を2μmol/ラットとなるように行った。実験にはF344/NS1c種の雄ラット(11-12週令)を用いた。ラットの飼育は、実験開始前から実験中を通じ、気温を24±1℃、湿度を50±10%、12時間の暗闇-12時間の照明のサイクル、さらに餌および水は自由摂取との条件で行った。

【0029】実験開始日に、ラットを飼育用ケージから実験用ケージに移した。実験用ケージには棒状の器具レバー(ステンレス製、5×40mm)が底から3cmの高さで壁面から飛び出して取り付けられている。底は、1cmおきに取り付けたステンレス棒(直径5mm)でできている。床は、全面にわたって直流電源からの供給により、隣合った2本の棒の間に電気を流すことができる。実験は、時計の読みで08:00から15:00までの間に行った。

【0030】ラットは、パソコン(MBC-200、商標、三洋電気(社)製)で操作する連続および繰り返し(1秒間5回)のブザーにより、識別による回避の学習に訓化した。ラットには、1回の試行ごとに、電撃(7

0ボルト、3秒、直流)に続いて5秒間、連続したブザー音か、繰り返しのブザー音かのどちらかを聞かせた。5秒間の連続したブザー音の後、5秒以内にレバーを押し下げれば、ラットは床からの電撃を受けずにすむ。しかし、繰り返しのブザー音の5秒以内にレバーを押し下げたのであれば、ラットは5秒後に床からの電撃を受けることになる。そうすると、ラットは電撃を受けないですむよう、2種類のブザー音を識別し、さらにレバーを押し下げた方がいいのかそうでないのかを選択する必要に迫られる。

【0031】連続したブザー音と繰り返しのブザー音のそれぞれを1試行とし、不規則に聞かせた。1回の試行から次の回までの間には、13秒間をおいた。連続して行った100回の試行を1回分とし、1回分の内での連続したブザー音の回数は繰り返しのブザー音の回数と同じにした。1匹のラットに対しては1日の試行回数は1回分を限度とし、次の1回分の試行までは前回から48時間をおいた。

【0032】ラットが電撃からの回避に成功した回数は1回分ごとに記録し、1回分の全部の試行回数に対する成功回数の合計から回避率を算出した。最初の1回分で回避率が66%を上回ったラットは、実験対照から外した。1回分を通じてのレバーを押し下げた回数を総計し、電撃と全くまたは殆ど関係なくレバーを押し下げたラットについては、電撃回避とは関係なくレバーを押し

下げても50%の確率では回避に成功するため、データを除外した。

【0033】第2回で行う1回分の実験の開始5分前に、それぞれのラットに、2種類の薬剤のいずれかを第1回と同一量投与した。得られたデータはt-テストにより解析し、統計的に有意差があるかどうかを調べた。結果を表1に示す。

【0034】比較例

ドコサヘキサエン酸(DHA)、オレイン酸、DHAエステルをそれぞれエタノールに $28\mu\text{mol/ml}$ となるように溶解した。グリセロホスホコリン(GPC)、塩化コリンは滅菌生理食塩水に $2\mu\text{mol/ml}$ となるようにそれぞれ溶解した。またトリDHAはそのまま用いた。溶液は小型の褐色瓶に入れ、窒素で充填した後4℃で保存した。腹腔内投与は、それらの内の1種類を $2\mu\text{mol/rat}$ となるように行った。コントロールはエタノールのみと滅菌食塩水のみを投与した。以下は実施例と同様に実施した。

【0035】第2回に行う1回分の実験の開始5分前に、それぞれのラットに、6種類の薬剤のいずれかを第1回と同一量投与した。得られたデータはt-テストにより解析し、統計的に有意差があるかどうかを調べた。結果を表1に示す。

【0036】

【表1】

表1

	試 料	ラット数 (匹)	回 避 率 (%)	
			第1回学習	第2回学習
実 施 例	ODPC	9	55.3±1.9	*64.2±2.9
	ODDC	5	52.6±2.2	**65.0±6.3
比 較 例	コントロール	5	55.4±3.4	55.6±2.9
	DHA	9	52.9±1.4	54.1±1.3
	オレイン酸	9	52.1±1.1	54.6±0.6
	DHAエステル	10	52.4±1.4	57.0±2.9
	トリDHA	7	53.1±2.1	53.7±2.5
	GPC	9	52.3±1.0	59.0±2.9
	塩化コリン	6	51.8±1.0	54.7±1.0

ODPC: 1-オレオイル 2-ドコサヘキサエノイル

-sn-グリセロ 3-ホスホリルコリン

ODDG: 1-オレオイル-2-ドコサヘキサエノイル
-sn-グリセロール

DHA: ドコサヘキサエン酸

トリDHA: トリドコサエノイルグリセロール

GPC: グリセロホスホコリン

*: t-テストによる検定の結果、対照群の第2回学習
に対し $P < 0.001$ で統計的に有意である

**: t-テストによる検定の結果、対照群の第2回学
習に対し $P < 0.05$ で統計的に有意である

【0037】表1の結果から、次のことがわかる。OD

PC、ODDG投与群とも、第1回学習はコントロール
との間に回避率で有意差は認められなかった。第2回学
習は両試料投与群ともコントロールとの間に有意に大き
な値を示した。比較例の試料の場合、第1回学習ではコ
ントロールと各試料投与群との間に回避率での有意差は
認められなかった。第2回学習も各試料投与群ともコン
トロールとの間に回避率での有意差は認められなかつ
た。GPC投与群は、2回目の回避率が1回目よりも有
意に大きな値を示したが、コントロールとの間に有意差
は認められなかった。

フロントページの続き

(72)発明者 橋本 真明
山梨県中巨摩郡玉穂町成島1559-1-B
404

(72)発明者 伊崎 義憲
山梨県甲府市大里町4346